

学校编码: 10384

分类号

密级

学号: 21620101152387

UDC

厦门大学

硕士学位论文

MED 激活 MEK/ERK 信号通路与 HeLa 细胞自噬的初步分析

Preliminary Analysis of MED-induced Activation of
MEK/ERK Pathway and Autophagy Inhibition in HeLa

肖淑燕

指导教师姓名: 张连茹教授

专业名称: 微生物学

论文提交日期: 2013 年 5 月

论文答辩时间: 2013 年 6 月

学位授予日期:

答辩委员会主席:

评阅人:

2013 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- () 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。
- () 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目录

摘要	I
Abstract.....	III
常用英文缩写词	V
第一章 前言	1
1.1 Hsp90 简介	1
1.1.1 Hsp90 的种类及其分布	1
1.1.2 Hsp90 的结构	1
1.1.3 Hsp90 的作用机制	2
1.1.4 Hsp90 客户蛋白及其相关信号通路	3
1.2 MEK/ERK 信号通路	6
1.2.1 MAPK 信号通路总览	6
1.2.2 MEK/ERK 信号通路简介	7
1.2.3 MEK/ERK 信号通路与细胞凋亡的关系	9
1.2.4 MEK/ERK 信号通路与细胞周期的关系	10
1.3 自噬的研究进展	10
1.3.1 自噬的概念	10
1.3.2 自噬的发生过程	11
1.3.3 自噬的分子机理	12
1.3.4 自噬的检测	13
1.3.5 自噬与癌症	16
1.3 立题背景及立题意义	17
第二章 材料与方法	19
2.1 材料	19
2.1.1 化合物来源	19
2.1.2 细胞株来源	19
2.1.3 质粒来源	19
2.1.4 主要试剂和试剂盒	19
2.1.5 主要耗材和仪器	22
2.1.6 主要试剂的配置	23
2.2 实验方法	25
2.2.1 细胞复苏、传代与冻存	25
2.2.2 抗肿瘤活性测定 (MTT 法测定细胞增殖抑制)	26
2.2.3 细胞存活率测定	26
2.2.4 细胞周期分布测定	27

2.2.5 免疫荧光观察.....	27
2.2.6 Western-Blotting 检测	28
2.2.7 细胞转染.....	29
2.2.8 shRNAs 的构建与慢病毒的制备	29
2.2.9 实时荧光定量 PCR (Real-time qPCR)	32
第三章 结果与分析.....	36
3.1 MED 抑制肿瘤细胞生长和增殖	36
3.1.1 MED 抑制肿瘤细胞生长和增殖.....	36
3.1.2 MED 衍生物抑制肿瘤细胞生长和增殖.....	38
3.2 MED 对 Hsp90 客户蛋白的影响	40
3.2.1 MED 对肿瘤细胞株中 Hsp90 相关蛋白的影响	40
3.2.2 MED 衍生物对肿瘤细胞株中 Hsp90 相关蛋白的影响	42
3.3 MED 对相关基因表达调控的影响	44
3.3.1 HeLa 细胞总 RNA 的提取	44
3.3.2 Real-time qPCR 结果	45
3.4 MED 激活 MEK/ERK 信号通路	48
3.4.1 MED 激活 HeLa 细胞株中 ERK 信号通路.....	49
3.4.2 抑制 ERK 激活对 MED 对细胞存活率的影响.....	49
3.4.3 MEK1 敲低质粒的构建与筛选.....	50
3.4.4 MEK1 表达水平降低对细胞增殖与细胞周期的影响.....	53
3.5 MED 对 HeLa 细胞自噬的影响	58
3.5.1 自噬的透射电镜观察.....	58
3.5.2 自噬的 GFP-LC3 荧光观察.....	58
3.5.3 流式细胞法检测 GFP-LC3 荧光变化.....	60
3.5.4 自噬相关蛋白的 Western Blotting 检测	62
第四章 讨论与结论.....	66
4.1 MED 抑制 Hsp90 与不同肿瘤细胞株药敏性的关系	66
4.2 MED 对相关基因表达调控机理的探讨	66
4.3 MED 激活 MEK/ERK 通路作用的探讨	66
4.4 MED 对自噬影响的探讨	67
4.5 展望	67
参考文献.....	68
致 谢	76
附 图	77
在学期间科研成果.....	79

Catalogue

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	III
Abbreviations.....	V
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Hsp90 Review	1
1.1.1 Classification and Distribution of Hsp90	1
1.1.2 Structure of Hsp90	1
1.1.3 Mechanism of Hsp90	2
1.1.4 Hsp90 client proteins and related pathways	3
1.2 MEK/ERK signaling pathway	6
1.2.1 MAPK pathway overview	6
1.2.2 Introduction of MEK/ERK pathway	7
1.2.3 MEK/ERK and apoptosis regulation	9
1.2.4 MEK/ERK and cell cycle regulation	10
1.3 Autophagy	10
1.3.1 Introduction	10
1.3.2 Process of autophagy	11
1.3.3 Molecular mechanism of autophagy	12
1.3.4 Detection of autophagy	13
1.3.5 Autophagy and cancer	16
1.3 Background, Purpose and Significance of this study	17
Chapter 2 Materials and Methods	19
2.1 Materials	19
2.1.1 Compounds	19
2.1.2 Cell lines	19
2.1.3 Plasmids	19
2.1.4 Reagent and Kits	19
2.1.5 Instruments	22
2.1.6 Preparing of major solution	23
2.2 Methods	25
2.2.1 Cell thawing, Passage and Cryopreservation	25
2.2.2 MTT	26
2.2.3 Measurement of cell death	26
2.2.4 Cell cycle analysis	27

2.2.5 Immunofluorescence	27
2.2.6 Western-Blotting	28
2.2.7 Transfection.....	29
2.2.8 shRNAs construction and Virus production.....	29
2.2.9 Real-time qPCR	32
Chapter 3 Results and Analysis.....	36
3.1 MED inhibits Viability and Proliferation of tumor cells	36
3.1.1 MED inhibits Viability and Proliferation of tumor cells.....	36
3.1.2 MED derivative inhibits Viability and Proliferation of tumor cells	38
3.2 Impact of MED on Hsp90 client proteins	40
3.2.1 Impact of MED on Hsp90 client proteins	40
3.2.2 Impact of MED derivative on Hsp90 client proteins	42
3.3 Effect of MED on related gene regulation	44
3.3.1 Extraction and purification of total RNA.....	44
3.3.2 Results of Real-time qPCR	45
3.4 Activation of MEK/ERK pathway by MED	48
3.4.1 MED activates MEK/ERK pathway in HeLa	49
3.4.2 Effects of MEK/ERK activation on cell survival.....	49
3.4.3 Construction of MEK1 shRNA plasmid	50
3.4.4 Impact of MEK1 knockdown on cell survival and cell cycle	53
3.5 Effects of MED on autophagy in HeLa	58
3.5.1 Morphological study of autophagy	58
3.5.2 Observation of GFP-LC3 fluorescence.....	58
3.5.3 GFP-LC3 fluorescence assay by FCM	60
3.5.4 Detection of autophagy related proteins	62
Chapter 4 Discussion and Conclusion.....	66
4.1 Relationship between Hsp90 inhibition and tumor sensitivity	66
4.2 Regulation of MED on related gene	66
4.3 Effects of MED-activated MEK/ERK pathway on tumor	66
4.4 Impact of MED on autophagy in HeLa	67
4.5 Perspective	67
References.....	68
Acknowledgements	76
Appendix.....	77
Publications.....	79

摘要

热休克蛋白 90 (Heat shock protein 90, Hsp90) 是细胞内含量极其丰富且分布广泛的分子伴侣蛋白, 它的客户蛋白 (client proteins) 多是细胞内信号转导通路的关键蛋白, 因而在控制细胞周期、细胞存活、激素水平及其他信号通路中起着重要的作用, 并与肿瘤的发生、发展密切相关。如果阻断 Hsp90 的功能将同时介导这些客户蛋白经泛素蛋白酶体通路降解, 从而起到“一靶多效”的作用。Hsp90 因此已成为癌症治疗的重要靶点。

真菌环氧二烯 (Mycoepoxydiene, MED) 是来自于海洋微生物的聚酮类化合物, 结构新颖, 有较强的抗肿瘤活性。前期研究发现 MED 是 Hsp90 的抑制剂, 并且已对 MED 抑制 Hsp90 引起 HeLa 细胞凋亡的分子机制进行了研究。然而, 有关 MED 抑制肿瘤细胞增殖的特异性、MED 对 Hsp90 及其客户蛋白基因的调控水平、MED 对细胞增殖信号通路 MEK/ERK 的激活及其对细胞自噬存活的影响尚不清楚。

本论文通过 MTT 和 Western Blotting 的方法, 首先对 MED 抑制的肿瘤细胞增殖与 Hsp90 客户蛋白质下调的特异性开展研究, 再通过实时定量 PCR、RNA 干扰、流式细胞术等方法, 研究 MED 抑制增殖敏感的 HeLa 细胞中 MEK 信号通路的激活与细胞增殖及其细胞自噬的影响。得到了以下有意义的结果:

1) MED 可以有效抑制 HeLa、MDA-MB-435、H1299、LnCAP 和 SW480 等多种肿瘤细胞的增殖, 其 IC_{50} 值介于 $15\ \mu\text{mol/L}$ 至 $30\ \mu\text{mol/L}$ 之间。MED 对不同的肿瘤细胞具有不同的抑制作用, 其中 HeLa 细胞对 MED 的增殖抑制作用最敏感;

2) MED 在细胞水平上对肿瘤细胞 Hsp90 的抑制作用与抑制肿瘤细胞增殖呈正相关, 表现在对增殖抑制敏感的肿瘤细胞中 (如 HeLa) 其客户蛋白 Akt、IKK α 、IKK β 、IKK γ 的下调越明显;

3) 经过 Real-time qPCR 分析发现, HeLa 细胞经 MED 处理后 Hsp90 客户蛋白 Akt、IKK α 、IKK β 、IKK γ 的 RNA 水平上的表达与阴性对照组差异不大;

4) MED 抑制 HeLa 细胞增殖却激活 MEK/ERK 信号通路, 抑制 MEK/ERK 通路的激活并不能促进细胞增殖。同样, shRNA 降低 MEK1 的表达水平后, 也

不能促进细胞增殖。MEK1 的表达水平降低基本没有改变 MED 对细胞周期的影响，也没有改变细胞周期蛋白的变化；

5) 自噬是使细胞存活的一种方式。MED 对 HeLa 细胞的自噬具有一定的影响，经 MED 处理后的 HeLa 细胞内 LC3-II 没有发生聚集到自噬溶酶体的现象。

根据上述结果得到以下研究结论 (1) MED 对不同肿瘤细胞抑制强度不同，具有一定的选择性。HeLa 细胞对 MED 的增殖抑制较敏感；(2) MED 在细胞水平上对肿瘤细胞 Hsp90 的抑制作用与抑制肿瘤细胞增殖呈正相关；(3) MED 对 Hsp90 及其客户蛋白的基因的转录调控不明显，对相关基因的表达调控主要发生在蛋白质水平的下调作用；(4) MED 激活 MEK/ERK 信号通路，并不能促进 HeLa 细胞增殖；(5) MED 对 HeLa 细胞的自噬具有独特影响，表现在先诱导后抑制的趋势。

本研究结果对真菌环氧二烯类化合物开发成新的抗癌药物以及将其作为小分子探针，揭示肿瘤细胞的内在规律均具有较为重要的意义。

关键词：Hsp90；mycoepoxydiene (MED)；自噬

Abstract

Hsp90 is a highly abundant and ubiquitous molecular chaperone whose client proteins are key proteins in the intracellular signal transduction pathways, so Hsp90 plays an essential role in many cellular processes including cell cycle control, cell survival, hormone and other signalling pathways. If we can block the function of Hsp90, these substrate proteins will be degraded following the ubiquitin proteasome pathway. Hsp90 has therefore become an important target for cancer therapy.

Mycoepoxydiene(MED) is a fungal polyketide with a novel structure, which is isolated from a marine fungus. Previous study indicated that MED can inhibit Hsp90 and thus induce HeLa to apoptosis. However, mechanisms still need to be elucidated on the MED-specific inhibition upon different tumor cells, the influence of MED on the gene regulation of Hsp90 and its client proteins, the impact of MED-induced MEK/ERK activation on tumor survival, and the effect of MED on HeLa autophagy .

In this paper, we first studied the specificity of MED on the proliferation inhibition and Hsp90 client proteins degradation in different tumor cells by MTT and Western Blotting. And then we studied the impact of MED-induced MEK/ERK activation on tumor survival and autophagy in the HeLa cells. The results are as follows:

1) MED demonstrates a concentration-dependent inhibitory effect on the proliferation of various tumor cells such as HeLa, MDA-MB-435, H1299, LNCaP and SW480, with IC₅₀ values ranging from 15 μ mol/L to 30 μ mol/L. MED has different effects on different types of cancer cell, among which HeLa is most sensitive to the inhibition of MED;

2) The MED-induced Hsp90 inhibition is correlated with its inhibition on tumor cell proliferation. It caused a great degradation of Hsp90 client proteins (Akt, IKK α , IKK β , IKK γ) in the sensitive tumor cell(such as HeLa);

3) The results of Real-time qPCR show that MED have little impact on the RNA expression level of Hsp90 client proteins;

4) MED inhibits the proliferation of HeLa cells but activates MEK/ERK signaling pathway. Inhibiting MEK/ERK pathway cannot promote cell proliferation. Similarly, and reducing the expression of MEK1 by shRNA cannot promote cell proliferation either. The reduced MEK1 expression is unable to change the impact of MED on the cell cycle and its related proteins;

5) Autophagy is a way to promote cell survival. MED has a certain influence on HeLa's autophagy. Treating HeLa with MED, LC3-II in the cell cannot be gathered to autophagolysosomes for degradation.

Based on the above results, we can draw the following conclusions: (1) MED has a certain selectivity upon different tumor cells, among which HeLa is most sensitive to the growth inhibition of MED; (2) The inhibitory level of Hsp90 caused by MED in tumor cells was positively correlated with the inhibition of tumor cell proliferation; (3) MED has little transcriptional regulation on Hsp90 and its client proteins, the regulation of related genes occurs mainly on the protein levels; (4) MED-induced MEK/ERK signaling pathway activation does not promote the proliferation of HeLa cells; (5) The impact of MED on autophagy is unique, showing the trend of inducing autophagy at the early stage but inhibiting it at the later stage.

Our study plays a significant role in developing MED and its derivatives into new anti-cancer drugs, as well as in using MED as a small molecular probe to reveal the internal mechanism of cancer cells.

Keywords: Hsp90; mycoepoxydiene (MED); autophagy

常用英文缩写词

缩写	全称（英文）	全称（中文）
Aha 1	activator of Hsp90 ATPase	Hsp90 ATP 酶的催化剂
APS	ammonium persulfate	过硫酸氨
AR	androgen receptor	雄激素受体
ATP	adenosine 5'-triphosphate	三磷酸腺苷
Bad	Bcl-2/Bcl-X _L -antagonist, causing cell death	诱导细胞死亡的 Bcl-2/Bcl-X _L 拮抗物
Bak	Bcl-2 homologous antagonist/killer	Bcl-2 同源拮抗物
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
Cdks	cyclin dependent kinases	周期蛋白依赖性激酶
Chip	C-terminus of Hsc70-interacting protein	Hsc70-相互作用蛋白的 C-末端
cIAP	cellular inhibitor of apoptosis	细胞凋亡抑制蛋白
DMEM	Dulbecco's modified of Eagle's medium	一种细胞培养液
ECL	enhanced chemiluminescent	免疫印迹化学发光
ER	estrogen receptor	雌激素受体
ERK	extracellular signal-regulated kinase	胞外信号调控激酶
FITC	fluoresceine isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
GA	geldanamycin	格尔德霉素
17-AAG	17-allylamino-demethoxy-geldanamycin	17-丙烯胺基-去甲氧基格尔德霉
17-DMAG	17-(2-dimethylamino)ethylamino-17-demethoxy-geldanamycin	17-二甲氨基乙氨基-17-去甲氧基格尔德霉素
Grp94	glucose-regulated protein 94	葡萄糖调节蛋白 94

Hsp	Hsp organizing protein	Hsp 组织蛋白
Hsp90	heat-shock protein 90	热休克蛋白 90
MAPK	mitogen-activated protein kinase	有丝分裂原激活的 蛋白激酶
MEK	mitogen-activated protein kinase kinase	有丝分裂原激活的 蛋白激酶激酶
MMP2	matrix metalloproteinases-2	基质金属蛋白酶-2
MTT	3-<4,5-Dimethylthiazol-2-yl>-2,5- diphenyltetrazolium bromide	3- (4,5-二甲基噻唑-2) -2,5- 二 苯基四氮唑溴盐
NAC	N-acetylcysteine	N-乙酰半胱氨酸
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PBS	phosphate-buffered saline buffer	磷酸缓冲液
PTEN	Phosphatase and tensin homolog	染色体缺失的磷酸酶和张力蛋 白同源物基因
ROS	reactive oxygen species	活性氧自由基
Stil	stress-inducible protein 1	胁迫诱导蛋白 1
shRNA	small hairpin RNA	小片段发夹结构 RNA
TNF- α	tumor necrosis factor- α	肿瘤坏死因子- α
TPR	tetratricopeptide repeat	三四氨基酸重复 (基序)
Trap1	tumor necrosis factor receptor-associated protein 1	肿瘤坏死因子相关蛋白 1
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮生长因子

第一章 前言

1.1 Hsp90 简介

热休克蛋白 90 (Heat shock protein 90, Hsp90) 是公认的抗肿瘤药物分子靶点, 作为分子伴侣对细胞中众多信号蛋白的构象成熟和功能稳定进行调控。Hsp90 在肿瘤细胞中含量丰富, 并在调控细胞增殖、分化以及凋亡相关的信号转导通路中发挥重要作用。

1.1.1 Hsp90 的种类及其分布

Hsp90 家族进化过程中高度保守, 在真核和原核细胞中都普遍存在^[1]。目前认为, 人类的 Hsp90 主要有 4 种亚型: Hsp90 α 、Hsp90 β 、Hsp75/TRAP1 和 GRP94。Hsp90 α 和 Hsp90 β 是重要的胞浆蛋白质, Hsp90 α 在细胞生长、细胞周期调节、细胞应激保护等方面起到重要作用; Hsp90 β 在早期胚胎发育、干细胞成熟、细胞骨架调控等方面发挥作用; Hsp75/TRAP1 位于线粒体基质, 与细胞周期调节有关; GRP94 位于内质网, 参与内质网蛋白质的成熟过程^[2]。

Hsp90 在胞浆内主要以同源二聚体 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 的形式存在, Hsp90 α 与 Hsp90 β 同源性为 84%。Hsp90 α 和 Hsp90 β 虽为胞浆蛋白质, 但在特定条件下可被转运至细胞核、线粒体或胞外基质等位置^[3, 4]。例如在肿瘤发生恶性转化时, 线粒体需要胞浆 Hsp90 的协助, 而抑制线粒体中 Hsp90 的功能可导致肿瘤细胞选择性凋亡^[5]。

1.1.2 Hsp90 的结构

从酵母 Hsp90 和 Grp94 (Hsp90 在哺乳动物内质网的异构体) 的晶体结构可以看出, Hsp90 以同源二聚体形式存在, 每个单体包含有三个高度保守的结构域: N-端 ATP 结合域 (25 kDa)、中间域 (35kDa) 和 C-端二聚化结构域 (12kDa)。Hsp90 的 N-端包含有一个特殊的 ATP 结合口袋^[6-8]。

Hsp90 二聚体处于开放状态时, 两个 N-末端分开, 可以捕获客户蛋白。ATP 的结合可以触发 ATP 结合口袋的关闭并使两个 N-端相互靠近, 形成 Hsp90 二聚

体^[9]，而 Hsp90 本身的 ATP 酶活性可以驱动分子伴侣的循环^[10]。

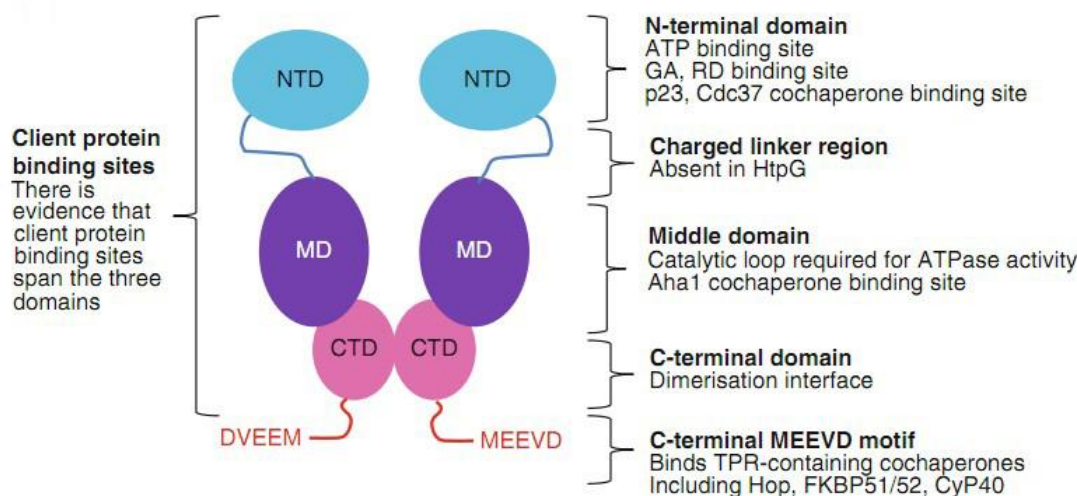


图 1-1 Hsp90 的结构示意图

Fig.1-1 Structure of Hsp90

1.1.3 Hsp90 的作用机制

Hsp90 发挥分子伴侣功能需要一些辅助分子伴侣（co-chaperones）的参与，如 Hsp70、Hop、Cdc37、p23 等^[11]。其中 Cdc37 能够特异性地募集多种蛋白激酶与 Hsp90 结合形成分子伴侣复合体，维持底物蛋白的稳定性和激酶活性^[12]。

以 Hsp90 辅助类固醇受体成熟过程为例（如图 1-2），可以更清楚地了解 Hsp90 的辅分子伴侣系统。分子伴侣循环始于新合成的或错误折叠的类固醇受体结合于 Hsp70/Hsp40 复合体，再通过 Hop 与 Hsp90 相结合。Hop 不仅与 Hsp90 C-端 MEEVD 序列结合，同时防止 Hsp90 N-端聚合^[13]。Hop 因此抑制了 ATP 酶活并促进客户蛋白从 Hsp70 转移到 Hsp90^[14, 15]。ATP 结合 Hsp90 时，Hop 被 p23 和亲免蛋白替换，使未成熟的伴侣蛋白复合体转化为成熟的伴侣蛋白复合体^[16]。此外，Aha1 是 Hsp90 的 ATP 酶激活剂，也是其伴侣蛋白之一，它能与 Hsp90 的中间区域相互作用促进其构象改变以利于 ATP 与之结合。Aha1 和亲免蛋白都能激活 Hsp90 的 ATP 酶活性^[17]。伴随着 Hsp90 对 ATP 的水解，正确折叠的客户蛋白从 Hsp90 上释放出来^[10]。

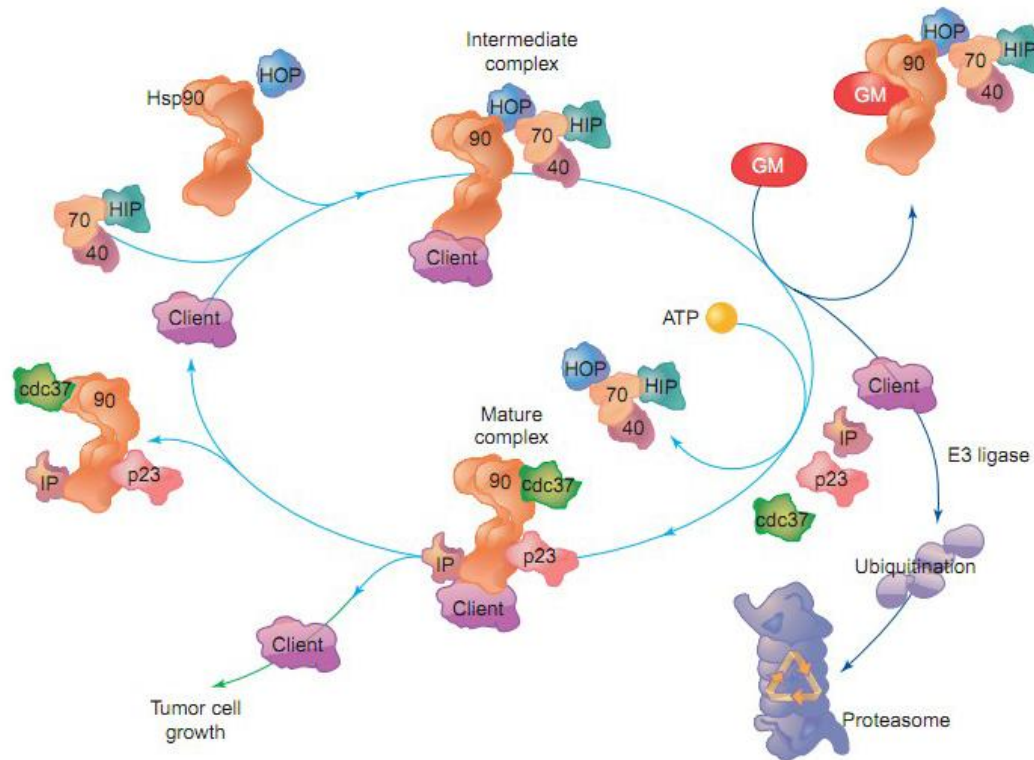


图 1-2 Hsp90 复合体辅助客户蛋白折叠过程^[18]

Fig.1-2 Hsp90 complex coordinating the folding process of related clients

1.1.4 Hsp90 客户蛋白及其相关信号通路

Hsp90 具有普通分子伴侣的功能，即协助蛋白折叠并阻止非原生蛋白的聚合。在癌症中这些客户蛋白很多产生突变或过量表达，抑制 Hsp90 可以对其客户蛋白及相关通路进行调控。目前，Hsp90 客户蛋白的成员已有 200 多种，几乎涵盖了所有的细胞进程。这些客户蛋白包括有跨膜酪氨酸激酶（Her-2、EGFR）、细胞内的激酶（Akt、IKK）、突变的信号蛋白（p53、v-Src）、嵌合的信号蛋白（Bcr-Abl）、细胞周期蛋白（Cdk4、Cdk6）和类固醇受体（雄性激素、雌性激素和黄体酮受体）等。其中 Akt 和 IKK 在肿瘤发生发展过程起着重要作用，因此以下着重对这两个客户蛋白及其相关信号通路进行介绍。

1.1.4.1 Akt 简介

Akt 又称 PKB，即蛋白激酶 B，是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，在细胞存活和凋亡中起着重要作用。激素、生长因子、胞外基质成分等生长和存活因子都可以激活 Akt 信号途径。Akt 能磷酸化并调节一系列蛋白成分，通过多种途径调节细胞代谢、凋亡和增殖。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”. Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库